Archive of SID
DOI: 10.22059/ijswr.2018.235079.667696

تحقیقات آب و خاک ایران، دوره ۵۰، شماره ۳، مرداد ۱۳۹۸ (ص ۷۶۲-۷۵۳)

Evaluation of Simultaneous Application of Powder Sulfur and *Thiobacillus thioparus* to Improve Calcareous Soils of Western Iran

AHMAD SAYAHI[1], BABAK SOURI[2*1]

1. MSc Graduate, Department of Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran
2. Associate Professor, Department of Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

(Received: June. 8, 2017- Revised: Nov. 2, 2018- Accepted: Nov. 11, 2018)

ABSTRACT

Powder sulfur is the most common used substance for improvement of calcareous soils particularly their pH while its efficiency in the soil is highly depend on its oxidation condition. The Objective of this research is to evaluate the efficiency of various amounts of sulfur to improve calcareous soils in presence of sulfur-oxidizer bacteria. Hence, 15 soil columns containing a calcareous soil including four sulfur treatments labeled S(0.125), S(0.250), S(0.375) and S(0.500) and a control treatment with lack of sulfur, each with three replications were manufactured and inoculated using *Thiobacillus thioparus* and then brought under leaching once a two weeks for six months. The results showed that the leakage of sulfate caused by sulfur oxidation was intensified for the temperatures above 25°C and reached a maximum in 30°C. Moreover, statistical analysis among sulfur treated columns approved presence of positive significant relationships between temperature and sulfate leakage (α= 0.01) from one hand, and negative significant relationships between temperature and pH (α= 0.01) on the other hand.

Keywords: Calcareous soil, Soil Column, Sulfur, *Thiobacillus thioparus*, Western Iran.

* Corresponding Author's Email: bsouri@uok.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

ارزیابی کاربرد توأم گوگرد پودری و *Thiobacillus thioparus* به‌منظور اصلاح خاک‌های آهکی غرب ایران

احمد سیاحی[۱]، بابک سوری[۲]

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

۲. دانشیار، گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۳/۱۸- تاریخ بازنگری: ۱۳۹۷/۸/۱۱- تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۸/۲۰)

چکیده

گوگرد پودری متداول‌ترین ماده مصرفی برای اصلاح خاک‌های آهکی خصوصاً pH آن‌ها می‌باشد و راندمان آن در خاک به شدت به شرایط اکسیداسیون آن وابسته است. هدف این تحقیق ارزیابی کارآمدی مقادیر مختلف گوگرد به منظور اصلاح خاک‌های آهکی در حضور باکتری اکسید کننده گوگرد می‌باشد. بدین منظور تعداد ۱۵ ستون حاوی یک خاک آهکی شامل چهار تیمار گوگرد با کدهای S(۰/۵۰۰)، S(۰/۳۷۵)، S(۰/۲۵۰)، S(۰/۱۲۵) و یک شاهد فاقد گوگرد هر یک با سه تکرار ساخته و با باکتری *Thiobacillus thioparus* تلقیح و سپس هر دو هفته یک‌بار به مدت شش ماه تحت آبشویی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که آبشویی سولفات حاصل از اکسیداسیون گوگرد از دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به بالا شدت گرفت و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به اوج خود رسید. همچنین تجزیه آماری در ستون‌های تیمار شده با گوگرد وجود روابط مثبت و معنی‌دار میان دما و سولفات آبشویی شده (α=۰/۰۱) از یک سو و منفی و معنی‌دار میان دما و pH (α=۰/۰۱) از سوی دیگر را تائید نمود.

واژه‌های کلیدی: خاک آهکی، ستون خاک، گوگرد، *Thiobacillus thioparus*، غرب ایران.

مقدمه

کاربرد گوگرد عنصری به‌عنوان کود علاوه بر جبران کمبود آن در خاک‌های کشاورزی، می‌تواند به تعدیل pH و در نتیجه بهبود دسترسی گیاه به طیف گسترده‌ای از عناصر در خاک‌های آهکی منجر شود (Safaa *et al*., 2013). میزان کارآمدی کود گوگرد براساس میزان اکسیداسیون آن مشخص می‌گردد. اما شرایط اکسیداسیون گوگرد به فرم قابل جذب آن یعنی سولفات، به علت تأثیر شرایط گوناگون بر آن غیر قابل پیش‌بینی می‌باشد (Germida & Janzen, 1993). فرآیند اکسیداسیون گوگرد در درجه اول یک فرآیند میکروبیولوژیک است. بنابراین فاکتورهای مختلفی مانند دما، رطوبت، مواد آلی و میزان هوای خاک که فعالیت میکروبی را تحت تأثیر قرار می‌دهند، می‌توانند بر اکسیداسیون گوگرد تأثیر بگذارند (Janzen & Betany, 1987). درجه حرارت مطلوب برای اکسیداسیون گوگرد بسته به خاک و متغیرهای دیگر متفاوت است (Germida & Janzen, 1993). نرخ اکسیداسیون گوگرد با pH بالای خاک (نظیر شرایط موجود در خاک‌های آهکی) همبستگی مثبت دارد و این همبستگی به ظرفیت بافری خاک در برابر سولفات تولید شده وابسته است (Barrow, 1971 ; Fox *et al*., 1964). از جمله خصوصیات خاک‌های آهکی که می‌تواند بر اکسیداسیون گوگرد تأثیر بگذارد درصد بالای کربنات خاک است. در مطالعه‌ای بر روی سه نوع خاک با خصوصیات مختلف و مقدار کربنات متفاوت گزارش شده است که میزان اکسید شدن گوگرد و کاهش pH در خاکی که دارای مقدار کربنات کمتری می‌باشد (خاصیت بافری کمتر) بیشتر خواهد بود (Modaihsh *et al*., 1989). در مطالعه‌ای دیگر همبستگی قوی، مثبت و معنی‌داری بین نرخ اکسیداسیون گوگرد و مقدار مواد آلی طبیعی خاک نشان داده شده است (Janzen & Betany, 1987). مواد آلی در خاک‌های آهکی بر اثر قرار گرفتن کربنات کلسیم بر روی آن‌ها به طور فیزیکی محصور شده (Le Tacon, 1978) و بر اثر تشکیل توده سیمانی با کربنات کلسیم (Oyonarte *et al*., 1994) از دسترس بخش فعال خاک یعنی همان محدوده مطلوب فوقانی از پروفیل خاک که برای رشد گیاهان است خارج می‌گردند. از طرف دیگر تعداد قابل قبولی از باکتری‌های اکسید کننده گوگرد مانند تیوباسیلوس باید در خاک به منظور اکسیداسیون گوگرد و افزایش اثر مثبت اصلاحی آن در خاک‌های آهکی حضور داشته باشند. میزان پایین اکسید شدن گوگرد در خاک‌هایی که فاقد باکتری‌های جنس *Thiobacillus* باشند گزارش شده است (Swaby & Fedel, 1973 ; Wainwright, 1984).کاربرد گوگرد تلقیح شده با باکتری‌های جنس *Thiobacillus* سبب کاهش pH خاک‌های آهکی می‌شود (Stamford *et al*., 2002). همچنین Hemmaty

* نویسنده مسئول: bsouri@uok.ac.ir

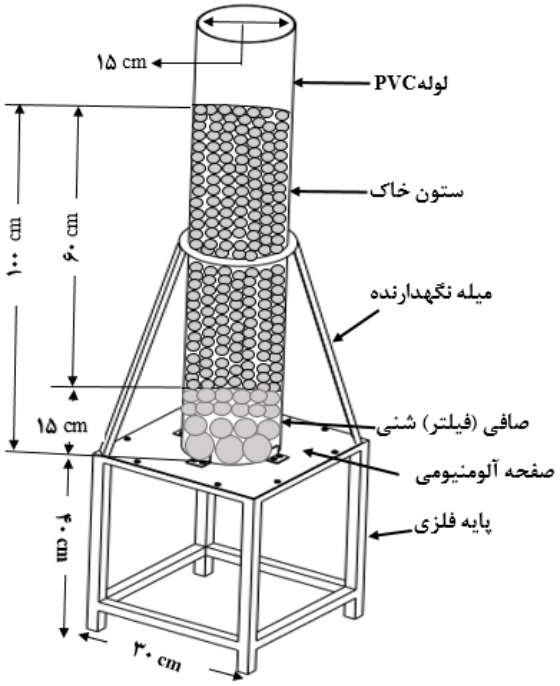
www.SID.ir

Archive of SID

et al. (2012) در تحقیقی به بررسی اثر گوگرد بر pH خاک پرداخته و نشان دادند که تیمارهای مختلف گوگرد اثر معنی‌داری بر pH خاک دارند. هدف این تحقیق، ارزیابی کارآمدی مقادیر مختلف گوگرد عنصری به عنوان محصول جانبی صنایع پتروشیمی به منظور اصلاح خاک‌های آهکی در حضور باکتری *Thiobacillus thioparus* می‌باشد.

مواد و روش‌ها

خاک مورد آزمایش در سال ۱۳۹۴ از زمین‌های کشاورزی دشت قروه در غرب ایران و از مکانی با مختصات عرض "۳۵°۱۶'۱۲ شمالی و طول "۴۷°۵۶'۰۰ شرقی به روش دست‌خورده و از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متر به روش تصادفی مرکب با برداشت چهار نمونه اولیه و مخلوط نمودن آن‌ها با یکدیگر به نسبت برابر تهیه گردید. نمونه دست‌نخورده نیز از خاک تهیه گردید که در تعیین وزن مخصوص ظاهری خاک بکار گرفته شد. پس از انتقال خاک نمونه‌برداری شده به آزمایشگاه، به مدت سه روز در هوا و دمای محیط خشک و سپس از الک دو میلی‌متر عبور داده شد. اندازه‌گیری pH خاک با نسبت ۲:۱ سوسپانسیون خاک: آب و با دستگاه pH متر مدل WTW-۷۳۰ و EC نیز پس از تهیه عصاره اشباع با دستگاه EC متر مدل WTW-۷۲۰ انجام گرفتند. میزان کربن آلی با روش تیتراسیون معکوس تعیین شد و بافت خاک نیز با روش هیدرومتری مشخص گردید. همچنین اندازه‌گیری درصد کربنات کلسیم خاک به روش تیتراسیون انجام شد. لازم به ذکر است که تمامی تجزیه‌ها براساس روش استاندارد (ISRIC, 2002) انجام گرفتند. مجموعاً ۱۵ ستون شامل ۴ تیمار و یک شاهد هر کدام در سه تکرار با استفاده از لوله‌های PVC به ارتفاع ۱۰۰ سانتی‌متر با قطر داخلی ۱۵ سانتی‌متر (Bergstrom, 2000) طراحی گردید. ستون‌های طراحی شده بر روی پایه‌های فلزی با ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر و ابعاد طول و عرض ۳۰ در ۳۰ سانتی‌متر بر روی ورقه‌ای آلومینیومی با همین ابعاد مستقر شدند به‌طوری که در مرکز ورقه آلومینیومی سوراخ‌هایی به قطر ۴ میلی‌متر به منظور آبشویی مناسب‌تر تعبیه گردید (شکل۱).



شکل۱- نمای ظاهری و ابعاد ستون خاک

گوگرد عنصری(S^o) پودری با خلوص ۹۹ درصد با اندازه ذرات ۷۵ میکرون و با خلوص ۹۹ درصد بوده و از پالایشگاه بندرعباس خریداری گردید. همچنین، گونه باکتری *Thiobacillus thioparus* به صورت اسلنت، از مرکز منطقه‌ای کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران (سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران) خریداری شد. باکتری *Thiobacillus thioparus* در محیط کشت غنی شده پست گیت[1] فراوان‌سازی گردید. برای تهیه این محیط کشت، مقادیر ۰/۵ گرم $MgSO_4$، ۰/۰۱ گرم$FeSO_4.7H_2O$، ۵ گرم $Na_2S2O_3.5H_2O$، ۳ گرم $(NH4)_2SO_4$، ۳ گرم KH_2PO_4 و

1. Postgate

www.SID.ir

Archive of SID

۰/۲۵ گرم $CaCl_2$ توزین و با اضافه کردن ۱۰ml از محلول عناصر کمیاب، حجم نهایی با آب مقطر استریل به یک لیتر رسانده شد. محلول KH_2PO_4 و محلول عناصر کم‌مصرف به طور جداگانه تهیه و استریل شدند. برای تهیه محلول KH_2PO_4 ۳۰ گرم از آن در ml ۲۰۰ آب مقطر حل گردیده و استریل شد. ۲۰ میلی‌لیتر از این محلول برای تهیه هر یک لیتر از محیط کشت استفاده شد. برای تهیه محلول عناصر کم‌مصرف مقادیر ۵۰ گرم ethylenediaminetetra-acetate، ۲۲ گرم $ZnSO_4.7H_2O$ ، ۵/۵۴ گرم $CaCl_2$، ۵/۰۶ گرم$MnC1_2.4H_2O$، ۴/۹۹ گرم$FeSO_4.7H_2O$، ۱/۱ گرم$(NH4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$، ۱/۵۷ گرم$CuSO_4.5H_2O$ و ۱/۶۱ گرم $CoC1_2.6H_2O$ توزین شده و در یک ظرف یک لیتری با آب مقطر به حجم رسانده و سپس اتوکلاو شد. (Postgate, 1959). در این تحقیق با توجه به وزن مخصوص ظاهری خاک طبیعی اولیه که با استفاده از نمونه دست‌نخورده حاصل شد مقدار ۱۶/۵ کیلوگرم خاک مورد نیاز برای پر کردن هر یک از ستون‌ها پس از الک شدن و توزین در کیسه‌های مخصوص اتوکلاو بسته‌بندی و در دمای۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه اتوکلاو شد (Trevors, 1996). به منظور تلقیح خاک با باکتری به هر کیلوگرم خاک ۱۰ سی‌سی از محیط کشت مایع همراه با باکتری با جمعیت ۳×۱۰^{۷} میلی‌لیتر به صورت اسپری افزوده شد. قبل از پر کردن ستون‌ها در قسمت انتهایی هر ستون فیلتر شنی استفاده گردید. این فیلتر با سه لایه مختلف با دانه‌بندی‌های دو تا چهار میلی‌متر (بالاترین لایه)، نیم تا یک سانتی‌متر (لایه میانی) و سه تا پنج سانتی‌متری (پایین‌ترین لایه)، هر لایه به ارتفاع پنج سانتی‌متر در مجموع به ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر تعبیه شد (Beig mohammadi *et al.*, 2015). در قسمت فوقانی فیلتر با رعایت وزن مخصوص ظاهری خاک، ستون‌ها با خاک تلقیح شده با باکتری به ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر پر شدند. بین ارتفاع ستون خاک و قطر آن نسبت ۱:۴ (ارتفاع : قطر) اعمال گردید (Lewis & Sjotrom, 2010). به منظور جمع‌آوری زهاب خروجی، قیف‌های پلاستیکی تعبیه گردید؛ و در زیر هر قیف یک ارلن مایر ml ۱۰۰۰ قرار داده شد. چهار تیمار پودر گوگرد عنصری با کدهای S(۰/۵۰۰) ، S(۰/۳۷۵)، S(۰/۲۵۰) و S(۰/۱۲۵) بدین صورت تهیه گردید که پودر گوگرد عنصری به ترتیب با نسبت‌های وزنی ۰/۵۰۰، ۰/۳۷۵، ۰/۲۵۰ و ۰/۱۲۵ درصد نسبت به وزن خاک خشک داخل ستون‌های تیمار هر کدام با سه تکرار به سطح خاک اضافه شد و سپس با ۱۰ سانتی‌متر بالایی خاک مخلوط گردید. ستون‌های شاهد نیز بدون گوگرد و تنها محتوی خاک تلقیح شده با باکتری در سه تکرار تهیه شدند. تغییرات دمای محیط آزمایشگاه (بدون اعمال کنترل دمایی) در طول دوره آزمایش با دماسنجی (HTC-2) با دقت ۰/۱ درجه سانتی‌گراد مورد پایش قرار گرفت. فرآیند آبشویی از تاریخ ۱۲ اسفند ۱۳۹۴ تا ۱۰ شهریور ۱۳۹۵ به صورت هر دو هفته یک‌بار با اضافه کردن مقدار ml ۵۰۰ آب مقطر انجام شد. اندازه‌گیری مقادیر pH و EC در زهاب‌های به دست آمده به ترتیب با استفاده از دستگاه pH متر مدل WTW-730 و EC متر مدل WTW-720 انجام پذیرفت. اندازه‌گیری کربنات با روش حجم‌سنجی انجام گرفت. در آن از محلول استاندارد EDTA و معرف اریوکروم بلاک تی برای انجام تیتراسیون استفاده گردید. مقدار سولفات نیز با روش کدورت سنجی در یک محیط اسیدی و با اضافه کردن کلرید باریم و قرائت جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۲۰ نانومتر انجام گرفت (Binaye motlagh, 2011). داده-های به دست آمده به صورت طرح آماری بلوک کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار spss ver 20 مورد تجزیه آماری قرار گرفتند و رسم شکل‌ها نیز در نرم‌افزار Excel انجام گردید.

نتایج و بحث

نتایج آنالیزهای خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک آهکی مورد مطالعه در (جدول۱) آمده است.

جدول ۱- نتایج آنالیز خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه

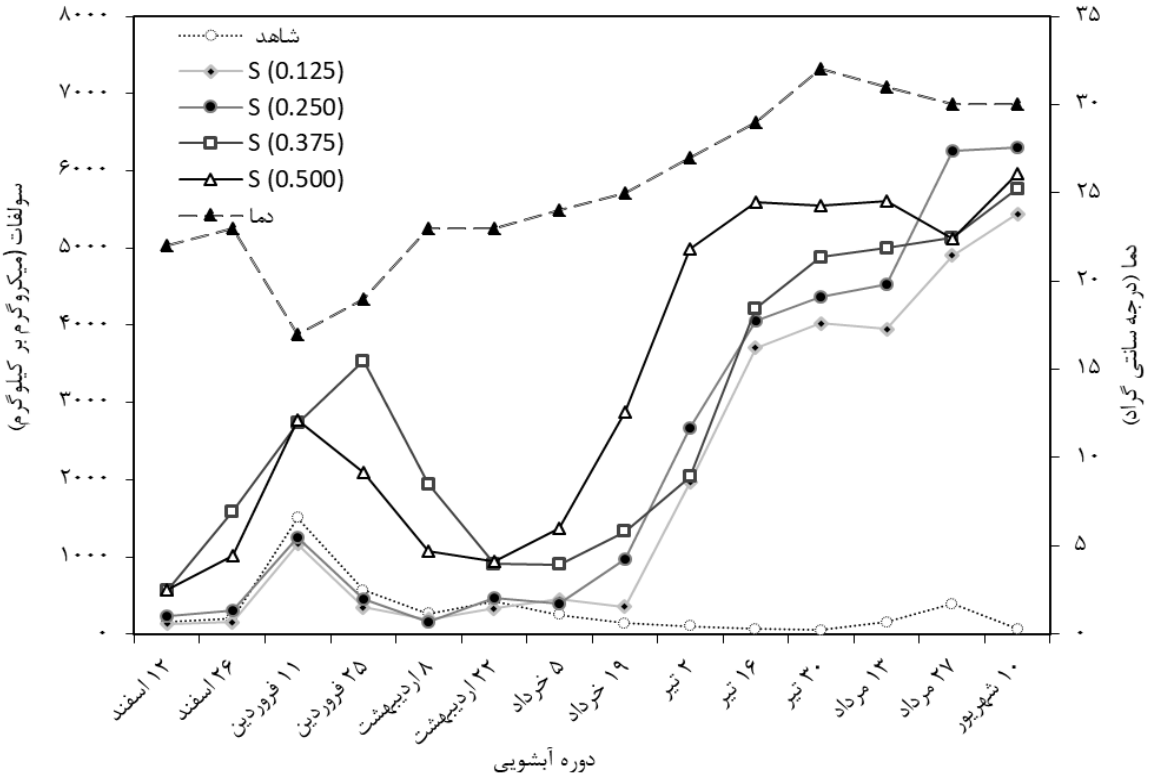
وزن مخصوص ظاهری(g/cm^3)	بافت خاک(%)			موادآلی (%)	کربنات کلسیم (%)	تخلخل (%)	EC (µS/cm)	pH
	شن	سیلت	رس					
۱/۵۶	۳۱/۲۵	۳۱/۲۵	۳۷/۵	۰/۱	۱۵/۶	۳۸	۳۸۳	۸/۵

روند تغییرات دمای محیط برای دوره‌های مختلف آبشویی در شکل (۲) نشان داده شده است. تغییرات دمای محیط در طول فرآیند آبشویی روند افزایشی داشته و فقط در مراحل آبشویی سوم، دوازدهم و سیزدهم کاهش حداقلی نشان می‌دهد. کمترین دمای ثبت شده برابر ۱۷ درجه سانتی‌گراد، و مربوط به مرحله سوم آبشویی می‌باشد. بیشترین دما نیز ۳۲ درجه سانتی-گراد و مربوط به دوره یازدهم آبشویی، در دوره بیشینه‌ی دما می‌باشد. فرآیند اکسیداسیون گوگرد در خاک از جمله فرآیندهای با واسطه بیولوژیکی بوده و همانند سایر فرآیندهای بیولوژیکی به شدت تحت تأثیر تغییرات دمایی می‌باشد. در

www.SID.ir

Archive of SID

مطالعه حاضر همان‌طور که در شکل (۲) مشخص شده است روند تغییرات دمایی با مقادیر آبشویی شده سولفات از ستون‌های شاهد و تیمارهای گوگرد کاملاً مشابه می‌باشد. آبشویی سولفات در مراحل اولیه آبشویی یعنی زمانی که دما پایین بود روند افزایشی کندی را نشان داده و در ادامه با افزایش دما در مراحل بعدی آبشویی مقدار سولفات خروجی در زهاب آبشویی نیز افزایش بیشتری یافته و این روند همبستگی شدید اکسیداسیون گوگرد با دما را به خوبی نشان می‌دهد (α= ۰/۰۵). از آنجایی که فرآیند اکسیداسیون گوگرد یک فرآیند بیولوژیک است بنابراین دمای پایین (مراحل ابتدایی مطالعه) سبب کند شدن فعالیت باکتری *Thiobacillus thioparus* در خاک شده و در نتیجه مقدار گوگرد کمتری اکسید گردید. اما با افزایش دوره‌ای دما، به طور هم‌زمان مقدار فعالیت و کارآیی *Thiobacillus thioparus* در اکسیداسیون گوگرد افزایش یافته و روند افزایشی آبشویی سولفات شدت گرفت. در مطالعه حاضر مشخص شد که حداکثر نرخ اکسیداسیون گوگرد در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد رخ می‌دهد، که با مطالعات قبلی (Lettl *et al.*, 1981 ; skiba and wainwright, 1984) مطابقت دارد. همان‌طور که (شکل ۲) نشان می‌دهد مقدار اکسیداسیون گوگرد (سولفات آبشویی شده) قبل از رسیدن به مقدار بهینه برای چند دوره آبشویی یک دوره تأخیر(Lag Period) از خود نشان می‌دهد(Chapman, 1989). ستون واجد بالاترین درصد تیمار گوگرد (S(۰/۵۰۰، در بیشتر دوره‌های آبشویی، بیشترین سولفات آبشویی شده را داشت. در دوره‌های اولیه آبشویی به ویژه در مرحله چهارم آبشویی برای تیمار S(۰/۳۷۵) مقدار سولفات بیشتری آبشویی شده است و پس از آن همانند S(۰/۵۰۰) بعد از یک روند کاهشی مجدداً افزایش یافت. برای درصدهای پایین‌تر تیمارهای گوگرد S(۰/۲۵۰) و S(۰/۱۲۵) مقدار سولفات آبشویی شده در مراحل ابتدایی در مقایسه با شاهد افزایش اندکی را نشان داده، ولی پس از گذر از دوره تأخیر و هم‌زمان با روند افزایشی دما از آبشویی ششم، روند افزایش آبشویی برای این دو تیمار نیز تغییرات چشم‌گیری نسبت به شاهد نشان داد (شکل۲).



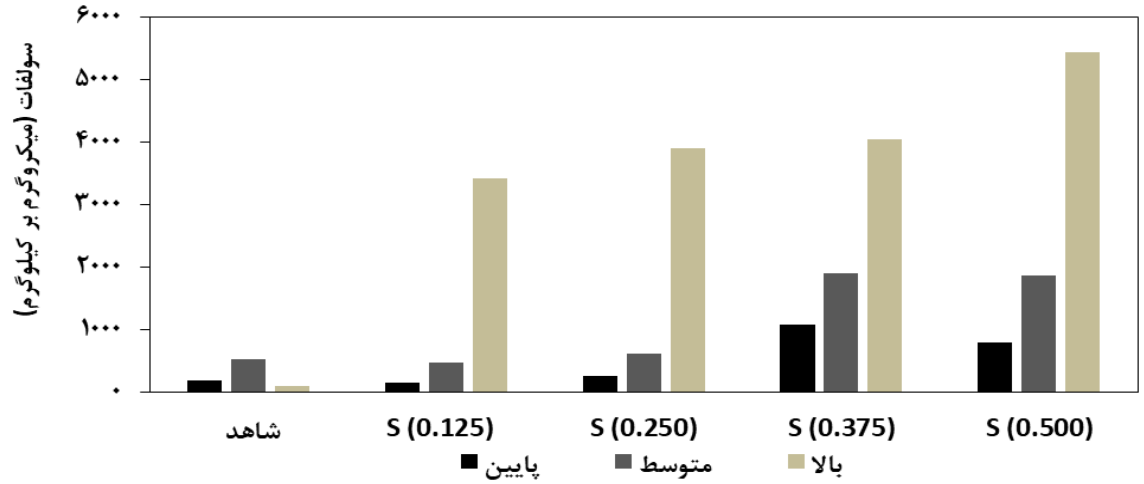
شکل ۲- روند تغییرات دما همراه با مقادیر سولفات آبشویی شده از ستون‌های شاهد و تیمار در دوره‌های مختلف آبشویی

میانگین تغییرات سولفات آبشویی شده از ستون‌های شاهد و تیمار براساس دوره‌های مختلف تغییرات دمایی در طول فرآیند آبشویی در (شکل ۳) آمده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود دماهای ثبت شده در طول فرآیند آبشویی به سه دوره (دماهای پایین، متوسط و دماهای بالا) تقسیم شده است. دوره‌ی دماهای پایین، دوره‌ای است که در آن کمترین دماها ثبت شده و دوره متوسط نیز دوره افزایش تدریجی دما می‌باشد. دوره دماهای بالا نیز نشان دهنده بالاترین دماهای ثبت شده است. میانگین

www.SID.ir

Archive of SID

دماهای ثبت شده در دوره‌های دمای پایین، متوسط و بالا به ترتیب ۲۰ ، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشند. میانگین تغییرات اکسیداسیون گوگرد و تولید سولفات دوره‌ی دماهای پایین از دوره‌های دیگر کمتر بود. با افزایش تدریجی دما، مقدار تولید سولفات (آبشویی سولفات) نیز افزایش یافت. این افزایش برای تیمارهای با درصدهای بالاتر گوگرد (S(۰/۵۰۰ و S(۰/۳۷۵) بیش از مقادیر مشابه برای تیمارهای با درصدهای پایین‌تر گوگرد (S(۰/۱۲۵ و S(۰/۲۵۰) مشاهده شد. همان‌طور که در (شکل ۳) ملاحظه می‌شود روند افزایش اکسیداسیون گوگرد در دوره دماهای بالا نسبت به دماهای پایین‌تر نیز برای تمامی تیمارهای گوگرد ادامه یافته و این مقدار افزایش با بالا رفتن درصد گوگرد، افزایش بیشتری را نشان داد. افزایش دوره-ای دما می‌تواند به میکروارگانیسم‌ها این اجازه را بدهد که فعالیت خود را در خاک افزایش دهند (Misson *et al.*, 2006). تغییرات دمایی بر نرخ اکسیداسیون گوگرد تأثیر می‌گذارد و با افزایش دما مقدار گوگرد اکسید شده افزایش می‌یابد (Chapman, 1996). اگر چه در مطالعات قبلی عنوان شده که در درصدهای بالای گوگرد به علت عدم امتزاج مناسب گوگرد با خاک (Modaihsh *et al.*, 1989) نرخ بهینه اکسیداسیون ممکن است که کاهش یابد (Chapman, 1989) ؛ اما مطالعه حاضر نشان داد که با افزایش درصد گوگرد، میزان اکسیداسیون افزایش می‌یابد که این امر نشان دهنده اندازه مناسب ذرات گوگرد (دامنه ۷۵ میکرون) به کار رفته در این مطالعه و اختلاط و امتزاج مناسب آن‌ها در محیط خاک می‌باشد. علاوه بر این مقدار تغییر اکسیداسیون گوگرد (آبشویی سولفات) برای ستون شاهد در آبشویی‌های دماهای متوسط(دوره‌های میانی آبشویی) بیشتر بوده و میانگین افزایش اکسیداسیون گوگرد در دماهای بالا نسبت به دماهای متوسط کمتر می‌باشد. به نظر می‌رسد در ستون‌های شاهد طی دوره افزایش تدریجی دما و با مساعد شدن شرایط دمایی برای *Thiobacillus thioparus* نسبت به دماهای پایین مراحل ابتدایی و به دلیل اکسید شدن گوگرد اولیه یا Native موجود در خاک مقدار اکسیداسیون گوگرد افزایش نشان داده است. کاهش مقدار میانگین اکسیداسیون گوگرد در دماهای بالاتر برای ستون‌های شاهد احتمالاً به دلیل کم شدن منابع گوگرد مصرفی برای باکتری *Thiobacillus thioparus* در خاک می‌باشد.



شکل ۳- میانگین تغییرات سولفات آبشویی شده از ستون‌های شاهد و تیمار براساس دوره‌های مختلف تغییرات دمایی در طول فرآیند آبشویی

ضریب همبستگی پیرسون برای ستون‌های شاهد همبستگی منفی و معنی‌داری را بین دما و سولفات در سطح ۰/۰۱ نشان داد (r = -۰/۵۵۹) در حالی که برای ستون‌های تیمار گوگرد ضرایب همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح ۰/۰۱ بین دما و سولفات آبشویی وجود داشت (جدول ۲).

pH اولیه خاکی که با آن ستون‌ها پر شده‌اند برابر ۸/۵ اندازه‌گیری شد (جدول ۱). شکل (۴) روند دوره‌ای تغییرات pH را برای ستون شاهد و تیمارهای گوگرد نشان می‌دهد. طبق این نمودار روند کاهش pH در تمامی مراحل آبشویی اتفاق افتاده است اما از مرحله نهم آبشویی روند کاهشی تغییرات pH برای تیمارهای گوگرد شدت بیشتری را نسبت به شاهد نشان داد. میانگین pH ستون‌های شاهد پس از ۱۴ دوره آبشویی، همچنان مقدار بالایی را نشان داد (pH =۸/۰۳). در حالی که مقدار pHنهایی برای تیمارهای S(۰/۵۰۰)، S(۰/۳۷۵)، S(۰/۲۵۰)، S(۰/۱۲۵) گوگرد به ترتیب ۷/۶۱، ۷/۶۶، ۷/۶۳، ۷/۶۸ به دست آمد. کاهش اندک مقدار pH در تیمار شاهد در آبشویی‌های اولیه به دلیل اکسید شدن گوگرد اولیه موجود در خاک توسط باکتری *Thiobacillus thioparus* می‌باشد. مطالعه حاضر نشان

www.SID.ir

Archive of SID

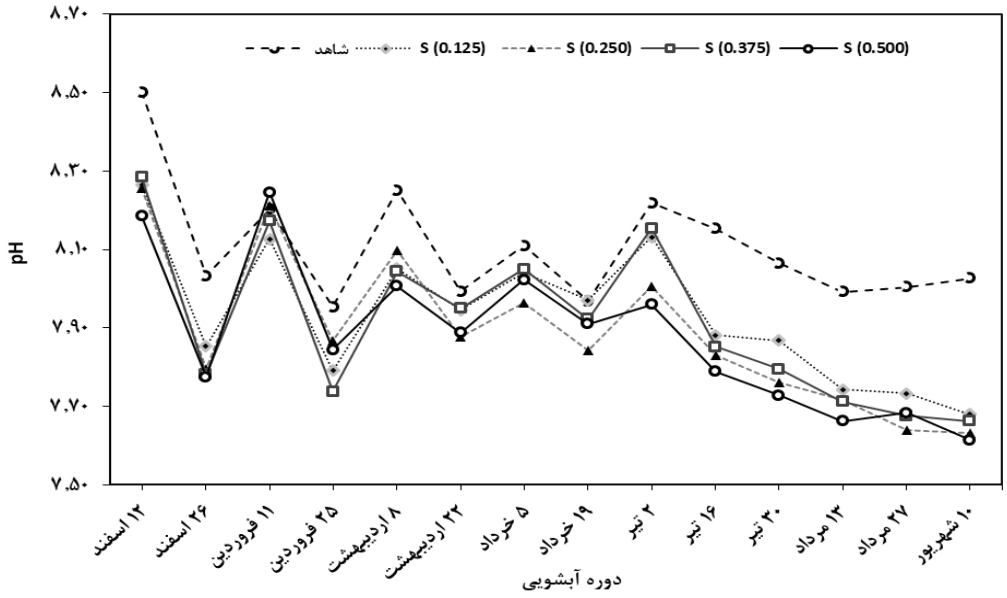
داد که با افزایش درصد گوگرد به کار رفته میزان اکسیداسیون گوگرد و آبشویی سولفات افزایش می‌یابد و از این‌رو کاهش pH قابل ملاحظه بود. بیشترین کاهش pH برای ستون‌های تیمار S(۰/۵۰۰) گوگرد و در آبشویی چهاردهم به دست آمد. در مطالعه حاضر هرچه روند تغییرات pH کاهش نشان داد میزان اکسیداسیون گوگرد افزایش و در نتیجه تولید بیشتر سولفات نیز کاهش بیشتر pH را باعث شد (Havlin *et al*., 1999). از طرفی همین کاهش pH شرایط را برای فعالیت باکتری اسیدی دوست *Thiobacillus thioparus* مناسب نموده و متعاقباً سبب اکسیداسیون مقادیر بیشتری از گوگرد می‌گردد. بین دما و pH همان‌طور که در (جدول۲) آمده است برای ستون‌های تیمار گوگرد همبستگی منفی و معنی‌داری در سطح ۰/۰۱ مشاهده شد اما این رابطه برای ستون‌های شاهد معنی‌داری نبود. تأثیر دما بر pH با واسطه تغییرات سولفات می‌باشد. یعنی با افزایش دما تولید سولفات افزایش و pH محیط خاک کاهش می‌یابد. برای تیمارهای گوگرد همبستگی بین دما و سولفات مثبت بوده و متعاقب آن همبستگی بین دما و pH منفی شده است (جدول۲). در حالی‌که کاهش شدید pH برای تیمارهای گوگرد در دوره‌های نهایی آبشویی مشاهده شد (شکل۴) اما برای ستون‌های شاهد از آنجایی که روند تغییرات pH با افزایش دما در طول ۱۴ دوره آبشویی کاهش شدیدی را نشان نداد همبستگی معنی‌داری بین دما و pH نیز مشاهده نگردید (r = -۰/۲۴۰).

جدول۲- مقادیر ضرایب همبستگی روابط میان دما و سولفات آبشویی شده با سایر پارامترهای مطالعه شده برای ستون‌های شاهد و تیمار

	ستون	pH	EC	CO_3^{2-}	SO_4^{2-}
دما	شاهد	-۰/۲۴۰	-۰/۲۴۰	-۰/۳۶۵*	-۰/۵۵۹**
	S(۰/۵۰۰)	-۰/۷۷۱**	۰/۸۲۴**	۰/۴۳۵**	۰/۶۹۰**
	S(۰/۳۷۵)	-۰/۵۲۷**	۰/۶۷۳**	۰/۲۸۹*	۰/۵۵۶**
	S(۰/۲۵۰)	-۰/۶۹۲**	۰/۷۳۴**	۰/۴۳۸**	۰/۷۸۶**
	S(۰/۱۲۵)	-۰/۴۹۸**	۰/۷۱۹**	۰/۳۹۲*	۰/۷۴۹**
سولفات	شاهد	۰/۰۲۸	۰/۱۲۲	۰/۱۹۰	۱
	S(۰/۵۰۰)	-۰/۶۲۶**	۰/۸۰۴**	۰/۸۰۴**	۱
	S(۰/۳۷۵)	-۰/۷۵۸**	۰/۸۵۱**	۰/۷۹۸**	۱
	S(۰/۲۵۰)	-۰/۶۶۶**	۰/۸۶۸**	۰/۸۴۶**	۱
	S(۰/۱۲۵)	-۰/۵۸۶**	۰/۸۴۶**	۰/۸۲۵**	۱

*همبستگی معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد(α=۰/۰۵)

** همبستگی معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ درصد(α=۰/۰۱)



شکل۴- تغییرات pH در دوره‌های مختلف آبشویی برای آب آبشویی شده از ستون‌های شاهد و تیمار

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج به دست آمده از ضرایب همبستگی پیرسون برای EC نیز معنی‌داری اثر اکسیداسیون گوگرد را بر میزان هدایت الکتریکی محلول خاک و زهاب خروجی نشان دادند. براساس داده‌های آماری (جدول ۲)، بین مقدار EC و مقدار سولفات آبشویی شده همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح ۰/۰۱ مشاهده شد. اما برای شاهد ارتباط معنی‌داری بین سولفات و EC مشاهده نشد (r =۰/۱۲۲). مقدارکربنات محاسبه شده برای خاک مورد مطالعه ۱۵/۶ درصد اندازه‌گیری شد(جدول ۱). در روشی که برای دسته‌بندی خاک‌های آهکی قبلاً معرفی شده است (Day, 1983) خاک‌هایی نظیر خاک مورد استفاده در مطالعه حاضر که بین ۱۵ تا ۲۵ درصد کربنات کلسیم داشته باشند در رده به شدت آهکی (Strongly Calcareous) قرار می‌گیرند. داده‌های آماری (جدول۲) نشان می‌دهد که طبق مقادیر ضریب همبستگی پیرسون برای آبشویی کربنات با آبشویی سولفات رابطه‌ای مثبت و معنی‌داری در سطح α=۰/۰۱ برای ستون‌های تیمارهای گوگرد وجود دارد در صورتی‌که این رابطه برای ستون‌های شاهد معنادار نبود (r =۰/۱۹۰). در ستون‌های تیمار گوگرد با انحلال کمپلکس‌های آهکی کربنات و خروج کربنات از خاک (کاهش کربنات خاک) شرایط برای اکسید شدن گوگرد و کاهش pH (کاهش شرایط قلیایی خاک) بیشتر مهیا می‌گردد.

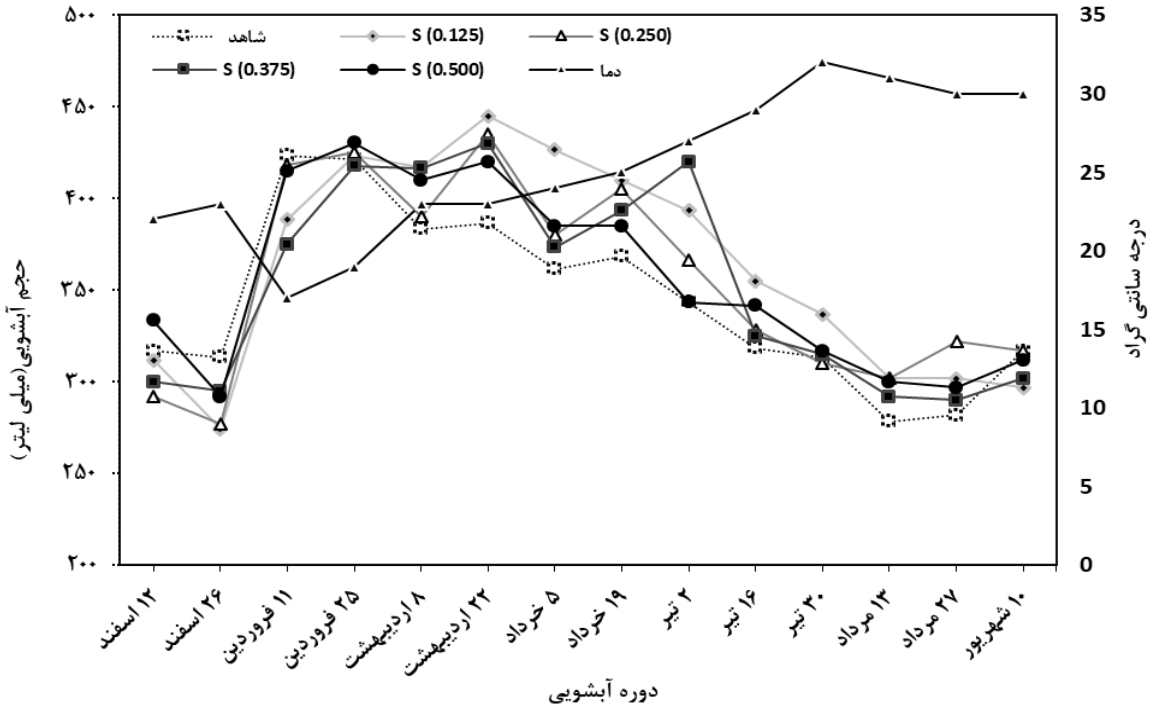
$$H_2SO_4 + CaCO_3 = Ca^{2+} + SO_4^{2-} + CO_2 + H_2O \quad \text{(رابطه ۱)}$$

با توجه به مقدار کم درصد مواد آلی اولیه در خاک مورد مطالعه (جدول۱) این انتظار وجود داشت که مقدار روند اکسیداسیون گوگرد و تولید سولفات تحت تأثیر قرار بگیرد. از طرفی مطالعات قبلی نیز وجود همبستگی مثبت و معنی‌داری را بین نرخ اکسیداسیون گوگرد و مقدار مواد آلی طبیعی خاک تائید نموده‌اند (Janzen and Betany, 1987). باکتری *Thiobacillus thioparus* از جمله باکتری‌های obligate chemolithotrophs می‌باشد (Taylor and Hoare, 1969). *Thiobacillus thioparus* در محیط‌هایی که از نظر کربن فقیر هستند؛ قادر به استفاده از گوگرد و نیتروژن به عنوان منبع تغذیه‌ای جایگزین می‌باشد (Postgate, 1959). بنابراین علی‌رغم کمبود کربن آلی در خاک مورد مطالعه، باکتری *Thiobacillus thioparus* با تغذیه از گوگرد عنصری و سایر منابع تغذیه‌ای به ویژه پس از کاهش کربنات خاک و افزایش دما، مقدار اکسیداسیون گوگرد را افزایش داده است. در این تحقیق با توجه به استریل کردن خاک پر شده در ستون‌ها و عدم حضور گونه‌های رقیب و شرایط مناسب خاک از نظر pH برای رشد *Thiobacillus thioparus* این باکتری به عنوان تنها گونه‌ی حاضر در خاک و عامل اکسیداسیون گوگرد عمل نموده است. بنابراین همان‌طور که از شکل (۲) برمی‌آید هر چه درصد گوگرد به کار گرفته شده در ستون خاک بیشتر بوده مقدار گوگرد اکسید شده (سولفات) نیز افزایش یافته است که این امر به دلیل دسترسی بیشتر به گوگرد از سوی *Thiobacillus thioparus* به عنوان تنها اکسیدکننده گوگرد در ستون‌های خاک مورد مطالعه می‌باشد. در نتیجه با افزایش فعالیت و رشد این باکتری سولفات بیشتری نیز تولید شده است که این نتایج با نتایج به دست آمده در (Deluca *et al*., 1989) همخوانی نشان می‌دهد. علاوه بر این، مقایسه روند تغییرات حجم آب آبشویی شده از ستون‌های مورد مطالعه نشان داد که تفاوت زیادی بین میزان آب خروجی از ستون‌ها وجود ندارد (شکل ۵). میکروارگانیسم‌های هوازی هنگام تلقیح با خاک می‌توانند با ایجاد یک لایه گسترده نازک از خود در قسمت انتهایی ستون مانع سهولت جریان آب در خاک گردند و شرایط هیدرولیکی درون ستون‌ها را تحت تأثیر قرار دهند (Vandevivere and Baveye, 1992). اما تحقیق حاضر نشان داد که استریل کردن خاک پیش از پر کردن ستون‌ها و اتوکلاو کردن شن بکار رفته به عنوان فیلتر در انتهای ستون‌ها سبب جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های مزاحم و بروز چنین پدیده‌ای می‌گردد. علاوه بر این، اضافه کردن مقدار مناسب آب به هر ستون (۵۰۰ mL) ضمن تأمین شرایط رطوبتی مطلوب، از وقوع شرایط غرقاب نیز که در آن مقدار هوای مورد نیاز برای اکسیداسیون گوگرد کاهش می‌یابد جلوگیری می‌کند.

از دوره ششم آبشویی، فرآیند پیوسته کاهش حجم زهاب آبشویی (آب خروجی از ستون‌ها)، هم‌زمان با روند افزایشی دما برای تمامی ستون‌ها اتفاق افتاد. احتمالاً مقداری از رطوبت خاک داخل ستون‌ها با افزایش دما تبخیر شده که این خود سبب تعدیل شرایط هوازی خاک برای فعالیت *Thiobacillus thioparus* و اکسیداسیون بیشتر گوگرد گردیده است (شکل ۵). علاوه بر این، حساسیت اکسیداسیون گوگرد به میزان رطوبت در دماهای پایین کمتر است (Lee *et al*., 1988). مقایسه روند تغییرات حجم آب آبشویی و میزان سولفات نشان داد که در درصد رطوبت بالای خاک خصوصاً از آبشویی سوم تا نهم گرچه در دسترس بودن آب مطلوب است اما اکسیداسیون گوگرد به‌واسطه هوادهی نامناسب باکتری تا حدودی محدود گردیده است (Germida and Janzen, 1993).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۵- روند تغییرات حجم آب خروجی از ستون‌های شاهد و تیمار به همراه تغییرات دمای محیط در دوره‌های مختلف آبشویی

نتیجه‌گیری

روند اکسیداسیون گوگرد با دما همبستگی مثبت دارد و تغییرات فصول و اثرات دمایی آن‌ها موجب تغییر روند اکسیداسیون گوگرد عنصری می‌گردند. حساسیت بالای اکسیداسیون گوگرد به درجه حرارت، تأثیرپذیری عملکرد زراعی کودهای گوگردی را نسبت به شرایط آب و هوایی مناطق مختلف نشان می‌دهد. از آنجا که اکسیداسیون گوگرد پس از عبور از یک دوره تأخیر به سمت اکسیداسیون بهینه پیش می‌رود بنابراین باید زمان (دوره دمایی) مناسبی را برای اضافه کردن گوگرد و تلقیح باکتری انتخاب کرد. انتخاب زمان مناسب برای افزودن کود گوگرد عنصری و تلقیح باکتری سبب می‌شود تا اکسیداسیون گوگرد توسط باکتری پس از عبور از دوره تأخیر در زمان مناسب اتفاق بیفتد. تغییرات دما بر میزان تبخیر آب و شرایط رطوبتی مورد نیاز برای اکسیداسیون گوگرد در خاک نیز اثر می‌گذارد. به علاوه قرار گرفتن شرایط هیدرولیکی خاک در وضعیت نزدیک به شرایط حد رطوبتی ظرفیت مزرعه سبب تعادل بین فازهای آب و هوای خاک گردیده و فعالیت *Thiobacillus thioparus* را بهبود می‌بخشد. اندازه ذرات گوگرد عنصری که برای اصلاح خاک آهکی به کار می‌رود نیز باید به گونه‌ای انتخاب شود که امتزاج مناسبی با خاک ایجاد کند تا سریع‌تر و راحت‌تر در اختیار باکتری *Thiobacillus thioparus* قرار گرفته و نرخ اکسیداسیون گوگرد افزایش یابد. باکتری *Thiobacillus thioparus* به‌طور مؤثری حتی در خاک‌های آهکی دارای مواد آلی اندک موجب اکسیداسیون بهینه گوگرد می‌گردد. درصدهای مختلف گوگرد در صورت رعایت شرایط دمایی و انتخاب گونه باکتری اختصاصی علاوه بر محیط اطراف محل اضافه شدن گوگرد (سطح فوقانی خاک) می‌توانند امتداد پروفیل عمقی خاک در محدوده فعالیت ریشه گیاه را نیز تحت تأثیر قرار داده و شرایط آهکی آن را اصلاح نمایند. با توجه به مطالب فوق استفاده از گوگرد عنصری همراه با تلقیح باکتری *Thiobacillus thioparus* برای اصلاح خاک‌های آهکی مشابه در غرب ایران که غالباً دارای pH بالا هستند توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از خانم زهرا صیادی (دانشجوی کارشناسی ارشد گروه محیط زیست دانشگاه کردستان) که همکاری فراوانی در نمونه‌برداری اولیه خاک و انجام تجزیه‌های مربوط به آن و سپس ساخت، تهیه، تست و نگهداری سه ستون شاهد بکار گرفته شده در این تحقیق داشتند کمال تشکر را دارند.

REFERENCES

Beig mohammadi F., Souri B. Badakhshan H. (2015) .Investigation of Ammonium Phosphate Fertilizer Influence on Arsenic Leaching in Calcareous Soils Using Soil Columns. *Journal of Soil*

www.SID.ir

Archive of SID

Researches. 28 (4). (In Farsi).

Binaye motlagh, P. (2011). Instructions and methods of measurement of physicochemical and mineral toxic chemicals in drinking water, the Ministry of Health and Medical Education. (In Farsi).

Barrow, N. (1971) . Slowly available sulphur fertilizers in south-western Australia. 1. Elemental sulphur. *Animal Production Science*, (11), 211-216.

Chapman, S. (1989). Oxidation of micronized elemental sulphur in soil. *Plant and soil,* (116), 69-76.

Chapman, S. (1996) . Powdered elemental sulphur: oxidation rate, temperature dependence and modelling. *Nutrient cycling in Agroecosystems*, (47), 19-28.

Day, J. (1983) . The Canadian Soil Information System (CanSIS). Manual for Describing Soils in the Field, 1982 revised. Expert committee on soil survey. Agriculture Canada, Ottawa, ON, LRRI, 82-52.

Deluca, T., E. Skogley and R. Engel. (1989) . Band-applied elemental sulfur to enhance the phytoavailability of phosphorus in alkaline calcareous soils. *Biology and fertility of soils,* (7), 346-350.

Fox, R., H. Atesalp, D. Kampbell and H. Rhoades. (1964) . Factors influencing the availability of sulfur fertilizers to alfalfa and corn. *Soil Science Society of America Journal*, (28) , 406-408.

Germida, J., and H. Janzen. (1993) . Factors affecting the oxidation of elemental sulfur in soils. *Fertilizer research,* (35), 101-114.

Hemmaty, S., Dilmaghani, M. R., and Naseri, L., (2012) Effects of Sulfur Application on Soil pH and Uptake of Phosphorus, Iron and Zinc in Apple Trees, *Journal of Plant Physiology and Breeding*, 2(1), 1-10.

ISRIC, F. (2002) . Procedures for soil analysis. ISRIC Technical Paper.

Janzen, H., and J. Bettany. (1987) a . The effect of temperature and water potential on sulfur oxidation in soils. Soil science, (144) , 81-89.

Janzen, H., and J. Bettany. (1987) b . Measurement of sulfur oxidation in soils. *Soil science*, (143), 444-452.

Havlin, J. L., Beaton, J. D., Tisdale, S. L., & Nelson, W. L. (2005). Soil fertility and fertilizers: An introduction to nutrient management (Vol. 515, pp. 97-141). Upper Saddle River, NJ: Pearson Prentice Hall.

Le Tacon, F. (1978) . The presence of calcium carbonate in soil. Influence on the behaviour of Norway spruce (Picea exelsa Link.) and Austrian pine (Pinus nigra nigricans Host.)[mineral nutrition, nitrate and nitrite reduction, influence of mycorrhiza]. Annales de Recherches Forestieres (France).

Lee, A., C. Boswell and J. Watkinson. (1988) . Effect of particle size on the oxidation of elemental sulphur, thiobacilli numbers, soil sulphate, and its availability to pasture. *New Zealand journal of agricultural research*, (31) , 179-186.

Lettl, A., O. Langkramer and V. Lochman. (1981) . Dynamics of oxidation of inorganic sulphur compounds in upper soil horizons of spruce forests. *Folia microbiologica*, (26) , 24-28.

Lewis, J., and J. Sjöstrom. (2010) . Optimizing the experimental design of soil columns in saturated and unsaturated transport experiments. *Journal of contaminant hydrology*, (115) , 1-13.

Misson, L., A. Gershenson., J. Tang., M. McKay., W. Cheng and A. Goldstein. (2006) . Influences of canopy photosynthesis and summer rain pulses on root dynamics and soil respiration in a young ponderosa pine forest. *Tree Physiology*, (26) , 833-844.

Modaihsh, A., W. Al-Mustafa and A. Metwally. (1989) . Effect of elemental sulphur on chemical changes and nutrient availability in calcareous soils. *Plant and soil,* (116) , 95-101.

Oyonarte, C., A. Pérez-Pujalte., G. Delgado., R. Delgado and G. Almendros. (1994) . Factors affecting soil organic matter turnover in a Mediterranean ecosystems from Sierra de Gádor (Spain): an analytical approach. *Communications in Soil Science & Plant Analysis*, (25) , 1929-1945.

Postgate, J. (1959) . Differential media for sulphur bacteria. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, (10), 669-674.

Safaa, M. M., S. Khaled and S. Hanan. (2013) . Effect of elemental sulphur on solubility of soil nutrients and soil heavy metals and their uptake by maize plants. J. Am. Sci, (9), 19-24.

Skiba, U., and M. Wainwright. (1984) . Oxidation of elemental-S in coastal-dune sands and soils. *Plant and soil*, (77) , 87-95.

Stamford, N., A. Freitas., D. Ferraz and C. Santos. (2002) . Effect of sulphur inoculated with Thiobacillus on saline soils amendment and growth of cowpea and yam bean legumes. The Journal of Agricultural Science, (139) , 275-281.

Swaby, R., and R. Fedel. (1973) . Microbial production of sulphate and sulphide in some Australian soils. *Soil Biology and Biochemistry*, (5) ,781-773.

Taylor, B. F., & Hoare, D. S. (1969). New facultative Thiobacillus and a reevaluation of the heterotrophic potential of Thiobacillus novellus. *Journal of bacteriology,* 100(1), 487-497.

Trevors, J. (1996) . Sterilization and inhibition of microbial activity in soil. Journal of Microbiological Methods, (26) , 53-59.

Vandevivere, P., and P. Baveye. (1992) . Effect of bacterial extracellular polymers on the saturated hydraulic conductivity of sand columns. *Applied and Environmental Microbiology*, (58), 1690-1698.

Wainwright, M. (1984). Sulfur oxidation in soils. *Advances in agronomy*, (37), 349-396.

www.SID.ir